

## ⑫ 公開特許公報 (A)

昭57—70448

⑤ Int. Cl.<sup>3</sup>  
G 01 N 27/30  
C 12 Q 1/00  
G 01 N 27/40

識別記号

庁内整理番号  
7363—2G  
7349—4B  
7363—2G

④ 公開 昭和57年(1982)4月30日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 3 頁)

## ⑭ 酵素電極

門真市大字門真1006番地松下電  
器産業株式会社内

① 特 願 昭55—147203

⑦ 発 明 者 飯島孝志

② 出 願 昭55(1980)10月20日

門真市大字門真1006番地松下電  
器産業株式会社内

⑦ 発 明 者 南海史朗

⑧ 出 願 人 松下電器産業株式会社

門真市大字門真1006番地松下電  
器産業株式会社内

門真市大字門真1006番地

⑦ 発 明 者 今井章博

④ 代 理 人 弁理士 中尾敏男 外 1 名

## 明 細 書

## 1、発明の名称

酵素電極

## 2、特許請求の範囲

(1) 少なくとも特定物質検出用電極、多孔体膜および酵素からなる酵素電極において、前記多孔体膜の一方の側の膜面上に前記特定物質検出用電極を形成し、前記多孔体膜の他の膜面上に前記酵素を固定化したことを特徴とする酵素電極。

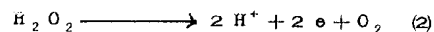
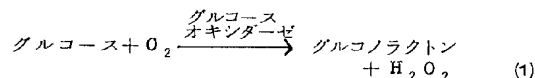
(2) 特定物質検出用電極が酸素または過酸化水素を検出するものである特許請求の範囲第1項記載の酵素電極。

## 3、発明の詳細な説明

本発明は、酵素の特異的触媒作用を受ける基質に対して電気化学活性を有し、基質の濃度を迅速かつ簡便に測定することが可能で、しかも繰り返し使用することのできる酵素電極を得ることを目的とする。

酵素の有する特異的触媒作用の工業的利用の一例として、酵素反応系と電気化学反応系を結びつ

けることにより、酵素と特異的に反応する物質である基質の濃度を測定することが試みられている。その一例として、特定物質検出用電極、たとえば過酸化水素( $H_2O_2$ )に対する白金電極、を用いて酵素反応で生成した物質を電気化学的に検知する方法がある。すなわち以下の(1)、(2)式に例を示す様に、酸素を水素受容体とする酸化還元酵素、例えばグルコースオキシダーゼの作用により基質、例えばグルコースが酸化されて $H_2O_2$ が生成し、次に、この $H_2O_2$ を、例えば白金電極を用いて酸化し、この時得られる酸化電流値から基質(グルコース)の濃度を知ることができる。



しかしながら、酵素は水溶性であるので、高価な酵素の繰り返し使用を可能にし、かつ迅速、簡便に基質濃度を測定するには、酵素を白金電極の近傍に固定化する必要がある。酵素の固定化法と

3 ページ  
 しては、セルローズあるいはポリカーボネートなどの有機高分子膜を固定化担体とする方法などが一般に用いられており、その一例が米国特許第3979274号明細書に述べられている。この方法は、比較的容易に酵素を固定化できるなどの長所を有する。しかし、この様な酵素固定化膜を用いて実際に酵素電極を構成するには、 $H_2O_2$  検出用電極としての白金板に酵素固定化膜を密着させねばならず、膜交換時の操作が煩雑となり、また再現性の低下につながるなどの欠点を有するものであった。さらに、基質濃度変化にすばやく応答させるには、白金板と酵素固定化膜の間隙をできるだけ小さくする必要があり、この点からも改善が望まれるものであった。

本発明者らは、以上に述べた諸点について種々検討を重ねた結果、優れた特性を有する酵素電極を見い出した。

本発明の酵素電極の特徴は、1枚の多孔体膜上に特定物質検出用電極を形成し、さらに酵素を固定化することにより、膜状の酵素電極とした点に

5 ページ  
 リングにより白金層を形成し、 $H_2O_2$  検出用電極とする。次にこの膜の反対面に、グルコースオキシダーゼ水溶液 ( $100\text{ mg/ml}$ ) を展開、乾燥し、 $25^\circ\text{C}$  のグルタルアルデヒド蒸気中にて約60分間、固定化反応を行った後、十分に水洗する。

得られた酵素電極を第2図に示す円筒形の電極ホルダーに装着し、測定に供した。図中4は参照極、5は対極、6は白金リード、7は酵素電極であり、膜の白金電極側はリード6に接しており、パッキン8を介してキャップ9により筒状の本体10に保持されている。また電極ホルダー内は、電解液11で満たされている。

この電極ホルダーをpH5.6の緩衝液中に浸漬し、酵素電極の電位を参照極に対し $H_2O_2$ の十分な酸化電位に設定した後、グルコースを添加し、基質濃度変化に伴う電流変化を測定した。グルコースの添加とともに、 $H_2O_2$ の酸化電流は素早く定常値に達するなど迅速な応答を示した。また、第3図に示すごとく、グルコース濃度と電流増加量との間に良好な直線関係が得られた。さらに繰

ある。

本発明の酵素電極について第1図にその一構成例を断面模式図で示す。すなわち、担体となる多孔体膜1の表面に蒸着あるいはスパッタリング等により、特定物質検出用電極2を形成し、次に目的とする酵素を膜表面さらには孔内部を含めて固定化し酵素固定化層3を形成する。この様にして、全体として一体化した薄膜状の酵素電極とすることができ、基質濃度変化に対して迅速な応答が得られる。さらに、従来のように、特定物質検出用電極に酵素固定化膜を重ね合わせて保持した場合には、使用中の膜の伸縮、張力変化などにより、電極と膜の間隙等が変化し、このため、応答特性が微妙に変化するなどの問題点を有するが、本発明の酵素電極においては、これらの影響をほとんど受けず、安定した応答を得ることができる。

以下、本発明を実施例により説明する。

担体とする膜として、ポリカーボネート多孔体膜(孔径 $2000\text{ \AA}$ 、膜厚 $10\text{ }\mu\text{m}$ 、孔密度 $3 \times 10^6$  個/ $\text{cm}^2$ )を用い、この膜の片面にスパッタ

6 ページ  
 り返し使用等に伴う応答特性の変動もほとんど無いなど安定した性能を有するものであった。

なお、特定物質検出用電極としては、上記白金以外に種々の貴金属や金属酸化物を用いることができる。また、検出対象となる特定物質としては、上記 $H_2O_2$ 以外に酵素があり、前述の反応式(1)におけるごとく酸素の消費に伴う酸素濃度変化を検出しても良い。この場合には、テフロン膜を担体とし、前記と同様に白金電極及び酵素固定化層を膜面上に形成して用いることにより、良好な応答特性を有する酵素電極を得ることができた。

上記対象となる酵素としては、グルコースオキシダーゼ以外に、ウリカーゼ、コレステロールオキシダーゼ、アミノ酸オキシダーゼ等、酸素あるいは過酸化水素が反応系に関与するものであればいずれも用いることができる。また、これらの酵素を含む複合酵素系についても適用できる。一方、使用可能な多孔体膜としては、前述のものに限られることはなく、種々のものを使用することができる。

7 ページ  
 以上のごとく、本発明の酵素電極は優れた性能  
 を有するものであり、その工業的価値は大である。

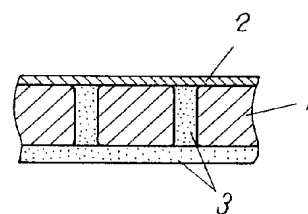
第 1 図

## 4、図面の簡単な説明

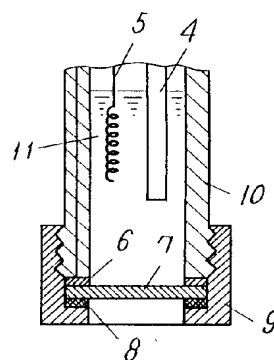
第1図は本発明の酵素電極の一構成例を示す断面  
 面模式図、第2図は酵素電極を装着した電極ホル  
 ダーの縦断面図、第3図はグルコース濃度と電流  
 増加量の関係を示す図である。

- 1 ……多孔体膜、2 ……特定物質検出用電極、  
 3 ……酵素固定化層。

代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名



第 2 図



第 3 図

